

Undersökningen

B-neutrofiler (3238)

Jannika Backlund

Examensarbete för bioanalytik (YH)-examen

Utbildningsprogrammet för bioanalytik

Vasa 2011



EXAMENSARBETE

Författare: Jannika Backlund

Utbildningsprogram och ort: Bioanalytik, Vasa

Handledare: Margareta Antus, Susanne Smeds & Tarja Vieri-Porttila

Titel: Undersökningen B-neutrofiler (3238)

Datum 28.11.2011

Sidantal 35

Bilagor 2

Sammanfattning

Syftet med examensarbetet är att ge ökad kunskap till laboratoriepersonalen om undersökningen B-neutrofiler. En ökad kunskap leder till bättre förståelse och ett säkrare provresultat.

Examensarbetet tar upp allmän information om B-neutrofilerna, om vilken betydelse de har för immunförsvaret och hur de arbetar i vår kropp. Dessutom tar arbetet upp viktig preanalytik samt vilka läkemedel och behandlingar som påverkar neutrofilerna.

För att samla material om hur undersökningen används vid Vasa Centralsjukhus skickades en enkät ut till läkare på vissa avdelningar på sjukhuset. Enkäten behandlades anonymt och endast i informationssyfte. Som en ytterligare del av examensarbetet gjordes en arbetsbeskrivning för hur laboratoriepersonalen ska gå tillväga då sjukhusets dataprogram alarmerar om neutrofilantal utanför referensområdet.

Språk: Svenska

Nyckelord: B-neutrofiler, neutrofila granulocyter, preanalytik, cancerläkemedel

Arkiveras: Yrkeshögskolan Novia

OPINNÄYTETYÖ

Tekijä: Jannika Backlund

Koulutusohjelma ja paikkakunta: Bioanalytikka, Vaasa

Ohjaajat: Margareta Antus, Susanne Smeds & Tarja Vieri-Porttila

Nimike: B-neutrofiilit (3238) - tutkimus

Päivämäärä 28.11.2011

Sivumäärä

35

Liitteet 2

Tiivistelmä

Opinnäytetyön tarkoitus on lisätä laboratoriohenkilökunnan tietoutta B-Neutrofiilit -tutkimuksesta. Lisääntynyt tietous ja parempi ymmärrys johtavat varmempaan koetulokseen.

Työ käsittelee yleistä tietoa neutrofiileistä, mikä niiden merkitys on puolustuksessa ja kuinka ne työskentelevät kehossa. Tämän lisäksi työssä käsitellään laboratoriotutkimukseen liittyvää tärkeää preanalytiikkaa sekä lääkeaineiden ja hoidon vaikutuksia neutrofiileihin.

Tutkimuksen käytöstä saatiin tietoa lähettämällä kyselylomake osalle Vaasan keskussairaalan lääkäreistä. Kyselylomakkeet käsiteltiin luottamuksellisesti ja ainoastaan tiedon saamiseksi. Tämän lisäksi työssä tehtiin ohje siitä, kuinka laboratoriohenkilöstön on toimittava kun sairaalan tietokoneohjelma hälyttää neutrofiileistä referenssialueen ulkopuolella.

Kieli: Ruotsi Avainsanat: B-Neutrofiilit, neutrofiili, preanalytiikka, syöpälääkeaine

Arkistoidaan: Yrkeshögskolan Novia

BACHELOR'S THESIS

Author: Jannika Backlund

Degree Programme in Biomedical Laboratory Scientist, Vaasa

Supervisors: Margareta Antus, Susanne Smeds & Tarja Vieri-Porttila

Title: Absolute neutrophil count (ANC)

Date 28.11.2011

Number of pages

35

Appendices 2

Summary

The purpose of this thesis is to provide increased knowledge about the neutrophil granulocytes and their significance in the laboratory process. Increased knowledge is important for the laboratory technicians and leads to a better understanding and an even more reliable result.

This thesis deals with the neutrophils in general but also their purpose for the immune defense and how they work and act in our body. The thesis also discusses preanalytical factors and some important drugs and treatments that affect the neutrophils. To collect information about the analysis used at Vaasa Central Hospital, a questionnaire was sent out to doctors at some wards at the hospital. The questionnaire was handled anonymously and only for the purpose of providing information for the thesis. As another part of the thesis, a manual for the laboratory was made. The manual describes what the technicians should do when the hematology analyzer gives an alarm that the neutrophil count is deviant.

Language: Swedish

Key words: Neutrophil granulocyte,
preanalytical factors, drug for cancer

Filed: Yrkeshögskolan Novia

Innehållsförteckning

1	Inledning	1
2	Syfte och problemprecisering	1
3	Metoder och tillvägagångssätt	2
4	Teoretiska utgångspunkter och teoretisk bakgrund	3
4.1	Preanalytiska fasen.....	3
4.2	Analytiska fasen	6
4.3	Immuncellernas roll vid en inflammation	10
4.3.1	Granulocyterna	12
4.4	Blodcellernas utveckling	13
4.4.1	Hematopoesen	13
4.4.2	Granulopoesen	14
4.4.3	Granulas utveckling	15
4.4.4	Cytokiner	16
4.5	Den neutrofila granulocyten	17
4.5.1	Neutrofilens kinetik	17
4.5.2	Fagocytosen	19
4.6	Värden utanför referensområdet	21
4.6.1	Neutropeni	22
4.6.2	Neutrofili	26
4.6.3	Granulocytfunktionsrubbningar	26
4.7	Läkemedels inverkan på neutrofilerna	27
4.7.1	Kemoterapi och neutrofilerna	27
4.7.2	Cancerläkemedel och neutrofilerna	28
4.7.3	Tillväxtfaktorbehandling	31
4.7.4	Psykofarmaka och neutrofilerna	32
5	Diskussion	33

Källförteckning

Bilagor

1 Inledning

Detta lärdomsprov är ett beställningsarbete av hematologilaboratoriet på Vasa Centralsjukhus. Syftet med arbetet är att ge ökad kunskap och bättre förståelse för undersökningen B-neutrofiler. Undersökningen mäter de neutrofila granulocyterna, vilka räknas till människas leukocyter och spelar en viktig roll i vårt immunförsvar. Det finska referensvärdet för de neutrofila granulocyterna i blodet är $2.1 - 6.5 \cdot 10^9/L$. Det är viktigt att vara medveten om neutrofilernas antal i blodet eftersom ett neutrofilantal långt utanför referensområdena är allvarligt och till och med kan leda till döden. Därför är det viktigt att ha kunskap om denna blodcell och förstå innebörden i det provsvar man får. Ett felaktigt svar kan få allvarliga konsekvenser och leda till felbedömningar och felbehandlingar av patienten.

2 Syfte och problemprecisering

Detta arbete behandlar främst de neutrofila granulocyterna. B-neutrofiler är en undersökning som beställs allt mera istället för B- TVK (total blodbild) och B-Diff (automatisk eller manuell diff). Syftet med arbetet är att ta reda på varför undersökningen beställs, vilken betydelse den har för patienten och vilken information ett resultat kan ge läkare och vårdpersonal samt hur ett resultat påverkar vilken behandling en patient får. Till exempel påbörjas inte en behandling med kemoterapi om patienten ifråga har för lite neutrofila granulocyter i blodet. Arbetet tar också upp vid vilka sjukdomar och medicinbehandlingar som neutrofilsvaret är viktigt, men innehåller också fakta om den neutrofila granulocyten i allmänhet och dess betydelse i immunförsvaret.

3 Metoder och tillvägagångssätt

Detta arbete har som utgångspunkt att ta reda på den praktiska tillämpningen av undersökningen B-neutrofiler vid Vasa Centralsjukhus. Ett frågeformulär gjordes som en del av lärdomsprovet. Frågeformuläret skickades ut via e-post till läkare på inremedicinska avdelningen, gynekologiska avdelningen, gynekologiska polikliniken, onkologiska polikliniken och psykiatriska enheten. Antalet skickade formulär var 38 stycken. Frågeformuläret tog upp frågor som varför undersökningen beställs, varför den är viktig och vilka behandlingsgränser som provsvaret ger. Detta frågeformulär finns bifogat i slutet av arbetet (bilaga 1). Svaren som läkarna gav behandlades anonymt och påverkade till en del arbetets riktning samt vilka punkter som behandlades. Som exempel kan nämnas att det av svaren framkom vilka läkemedel som används vid behandling av cancer och psykiska störningar. Dessa läkemedel behandlas i kapitel 4.

Som en annan praktisk del av lärdomsprovet gjordes en arbetsbeskrivning av Sysmex XE-5000 och tillhörande dataprogram. Vanligtvis godkänns provsvaren automatiskt till patientens databas men om svaren är avvikande måste svaren kvitteras för hand. När neutrofilsvaren är avvikande måste flera olika steg utföras i programmet och det är detta som kräver en ordentlig och tydlig beskrivning. Den gjorda beskrivningen innehåller fyra punkter som dataprogrammet kan ge och hur laboratoriepersonalen kan kvittera och godkänna svaren manuellt. Även denna beskrivning finns bifogad som bilaga (bilaga 2) i slutet av arbetet.

4 Teoretiska utgångspunkter och teoretisk bakgrund

Laboratorieundersökningsprocessen delas in i den preanalytiska fasen, analytiska fasen och den postanalytiska fasen. Till den preanalytiska fasen hör allt som händer före själva provtagningen, dit hör beställning av analys, provtagningen, hanteringen av provet och transporten till laboratoriet. Den analytiska fasen anser provets analysering och resultatet som fås. Till den postanalytiska fasen hör allting som rör provet och provsvaret efter analysering, dvs. tolkning och utgivning av svaret. Hela laboratorieprocessen är viktig men i detta kapitel ska främst den preanalytiska och den analytiska delen behandlas och betoningen ligger på de hematologiska undersökningarna. (Wallin, 2006, 5, 7, 8).

I kapitel 4 behandlas även immuncellernas roll i inflammationsreaktionen, blodcellernas utveckling samt neutrofilerna och deras antal utanför referensområdet.

4.1 Preanalytiska fasen

I dagens sjukvård är laboratorieundersökningarna en viktig del av diagnostik och i många fall kan ett provsvar leda till att en behandling sätts in eller alternativt avslutas. Därför är ett korrekt laboratoriesvar viktigt och ett felaktigt svar kan i vissa fall få förödande konsekvenser. En fjärdedel av de fel som görs i hela provprocessen drabbar patienten. Det kan vara fel som leder till ett försenat provsvar eller att man tvingas ta provet på nytt men kan också leda till onödig behandling eller i vissa fall livshotande konsekvenser och lidande. 40-60 % av de fel som görs i laboratorieprocessen sker i den preanalytiska fasen medan endast 10 % sker i den analytiska fasen. Det är viktigt att alla processer i laboratorieprovets väg utförs korrekt och att man tar i beaktande både analytiska, preanalytiska och postanalytiska faktorer. (Wallin, 2006, 5, 7, 8).

Ett gott samarbete mellan laboratoriet och vårdavdelningen kan leda till minskade preanalytiska fel. Tydliga provtagningsanvisningar och riktlinjer för provtagning och provhantering hjälper till att minska fel som beror på okunskap och ger samtidigt trygghet till personalen. Vanliga fel i den preanalytiska fasen är felidentifiering av patienten, feltagna prov eller felhantering men också felbeställning av prov eller

missförstånd. Avvikelse rapporter skrivs då provtagaren eller provhanteraren upptäcker ett fel som gjorts. Utbildning och fortbildning av personal skulle ge ökad kunskap och resultera i färre preanalytiska fel. (Wallin, Sundberg, Van Guelpen, Granqvist, 2006, 1614, 1615).

Provtagningen bör alltid ske på samma sätt. Som exempel kan resultatet på en analys av hyperkolesterolemi variera upp till 7 % om provtagningen sker med en förlängd stasning. Om ett prov är taget utan stas första gången före insättning av medicin och sedan med en förlängd stasning vid uppföljningen av medicinering kan analysen ge falska förhöjda svar och leda till att patienten får medicin i onödan. (Wallin, 2006, 11).

Tidpunkten för provtagningen är något som ska observeras när det gäller att minska preanalytiska fel. Vissa kemiska undersökningar påverkas av vilken tidpunkt på dygnet provet är taget. Kortisol är ett sådant ämne. Kortisolhalten i blodet är högst på morgonen och lägst på eftermiddagen. Kortisol är ett startpåverkande hormon som till exempel påverkar glukoshalten i blodet. Därför borde detta tas i beaktande även när man vill bestämma glukoshalten i blodet. (Miller, 2003, 70).

I vilken kroppsställning patienten är i under provtagningen borde också beaktas. Om en analyt under en tid ska följas upp är det bra om patienten alltid befinner sig i samma kroppsställning under provtagningen. Det har visats skillnader mellan prov tagna då patienten ligger och då patienten sitter eller står upp. Detta beror på att kroppens vätskebalans skiljer sig i olika lägen. Till exempel så går vätskan ut från blodbanan när man sätter sig upp från liggande läge och koncentrationen av stora molekyler ökar då naturligt i blodet. Albumin är ett sådant ämne som är högre i medeltal hos patienter som kommer till provtagningen hemifrån än hos avdelningens sängliggande patienter. Små molekyler, såsom glukos kommer ut i blodet tillsammans med vatten och påverkas inte av patientens läge men sådana molekyler som är bundna till de större proteinerna ökar om patienten är i sittande läge. Sådana analyter är till exempel kalcium, bilirubin och många läkemedel. (Miller, 2003, 70).

Andra viktiga preanalytiska faktorer som påverkar patientens provresultat är medicinering före provtagningen. I många fall ska medicineringen upphöra en tid före provtagningen. Fysisk ansträngning före provtagningen kan leda till förhöjda

leukocyttal precis såsom också kost och kraftiga känslospänningar som till exempel stress, glädje och rädsla kan påverka till förhöjda leukocyttal. De senare faktorerna har samband med att starka känslor påverkar adrenalinhalten i blodet. Även tobaksrökning höjer leukocyttalet. (Wallin, 2006, 9-10).

Tidigare forskning har visat att en förlängd stasning av venen ger falska svar. Stasning innebär att man vid venprovtagning delvis stoppar upp blodflödet med ett gummiband för att underlätta provtagningen. Helst ska en stas användas endast då det är nödvänligt och den ska avlägsnas så fort punktion av en ven lyckas. Stasen ska inte vara spänd längre än en minut. Ibland är det omöjligt att undvika situationer som kräver en förlängd stasning. Det kan till exempel vara svårt att hitta vener på vissa patienter, många prover kan vara begärda och på det sättet förlängs stasanvändningen. Även om stasen under provtagningen är allmänt erkänd så är det en av de främsta orsakerna till variationer och felaktiga svar vid analyseringen. Resultatet efter en provtagning med en stasning på 3 minuter skiljde sig anmärkningsvärt från ett svar från samma patient men med en stasning på bara 1 minut. Stasningen påverkar flera av de kemiska undersökningarna men det har också visat sig att även en förlängd stasanvändning kan minska antalet av leukocyterna. Detta stämmer överens med belägget att leukocyter och andra blodkroppar klibbar fast i det venösa endotelet då blodets flödes hastighet minskar. Dessutom kan stasning och venös hypertension få endotelet att frigöra inflammatoriska signalmolekyler såsom interleukin 1-beta, interleukin 6 eller tumörnekrosfaktorer. Signalmolekylerna lockar leukocyterna till området och aktiverar dem. Användning av stas under en förlängd tid kan alltså leda till svaga men kliniskt betydande felresultat vid analyseringen. Även muskelarbete såsom att pumpa eller knyta handen hårt leder till felaktiga provsvar. Vidare kan också en förlängd stasning eller att patienten knutit handen hårt leda till lokal hyperoxi och därmed acidosis och påverka analys av kalium. (Lippi m.fl., 2006, 334, 336).

Alla hematologiska undersökningar ska göras från blod blandat med antikoagulant, EDTA, citrat eller i vissa fall heparin. Det är viktigt att blanda om blodprovet väl så att det inte bildas koagelklumpar. Prov med klumpar ger fel analysresultat. EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid eller etylendiamintetraättiksyra) får överlag cellerna att skruppna men den accepterade formen K2-EDTA har lägre pH och är därför mera lämpligt som antikoagulant i blodprov och används på de flesta laboratorierna. Men även denna form av EDTA

påverkar cellerna negativt om provet får stå för länge. Erythrocyterna sväller vilket får MCV (medelvolymen hos en erythrocyt) att stiga. Trombocyterna påverkas av EDTA till att bli sfäriska och går sönder vilket leder till att antalet sjunker. Antalet leukocyter sjunker också långsamt om provet får stå för länge innan analys. Det rekommenderas att provet mäts inom fyra timmar. (Guder, Narayanan, Wisser & Zawta, 2009, 56).

Vanligtvis används provrör med vacuumsystem som innehåller en viss mängd EDTA så att syrans koncentration är 1,2 – 2,0 g/ L. Detta är den optimala koncentrationen och för ett tillförlitligt svar är det viktigt att koncentrationen blir rätt. För stor mängd EDTA ändrar till exempel morfologin på de neutrofila granulocyterna inom en timme. Om EDTA - koncentrationen ökar kan till exempel bindningen mellan loberna släppa och granuleringen minskar. För hög EDTA - koncentration kan ge felaktigt höga trombocytantal. (Guder, Narayanan, Wisser & Zawta, 2009, 56).

4.2 Analytiska fasen

I Finland görs årligen miljontals blodbildsanalyser. Den vanligaste analysen är B-PVK (pieni verikuva) eller liten blodbild. Till undersökningen hör mätning av hemoglobinhalt, erythrocyternas antal och volym, trombocyternas och leukocyternas antal. Den totala blodbilden B-TVK (täydellinen verikuva) räknar förutom tidigare nämnda värden även indelningen av leukocyterna i de olika mognadsgraderna. En hematologisk analysator har en gräns vid vilken apparaten godkänner provresultatet. Ett avvikande svar ger ett felmeddelande och måste godkännas för hand genom att granska blodet i mikroskop. (Sinisalo & Koski, 2010).

I detta examensarbete har det valts att ta upp hematologianalysatorn Sysmex XE-5000 eftersom den i dagens läge är den aktuella analysatorn på hematologilaboratoriet på Vasa Centralsjukhus. Sysmex XE-5000 är en automatiserad hematologianalysator som används för in vitro diagnostik. Analysatorn är tillverkad av Sysmex Corporation som har sitt huvudkontor i Japan. Analysatorn kan analysera och svara för 76 parametrar, av vilka 37 är

diagnostiska parametrar från blodprov. Analysatorn kan analysera upp till 150 prover i timmen. (Sysmex Corporation, 2007, 1:1; Paattiniemi, 2009).

Enbart humant blod, humana kroppsvätskor eller specialtillverkade kontroller får köras på analysatorn. Prover tagna i EDTA-rör ska användas och analyseringen ska ske inom 4 timmar efter provtagningen. Ett nerkylt prov ska värmas i rumstemperatur i minst 15 minuter före analyseringen för att uppnå ett korrekt provsvar. Analysatorn använder ca 200 µL blod. I det normala läget blandar analysatorn proven automatiskt men om provet stått en längre tid kan det vara bra att för hand blanda proven innan de laddas till apparaten. Före analysering i det manuella läget ska provet alltid blandas. Blandningen ska ske varsamt eftersom en kraftig blandning kan förstöra blodkropparna och ge felaktiga svar. (Sysmex Corporation, 2007, 1:1, 6:12, 6:34).

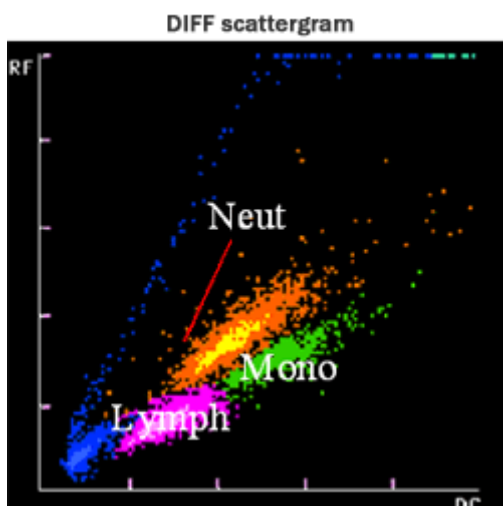
XE-5000 kan utföra analyser i fyra olika lägen. I det normala läget läses, blandar, aspirerar och analyseras proven automatiskt utan att korkarna behöver tas av. Upp till 100 prover kan laddas samtidigt. I det manuella öppna läget behandlas ett prov åt gången och rörets kork tas bort för hand och aspireras med en pipett på framsidan av apparaten. Det manuella läget kräver en mindre mängd (130 µL) än det automatiska slutna läget (200µL) och passar därför för en mindre blodmängd eller analys av andra kroppsvätskor än blod. Om ett prov med väldigt liten provmängd, t.ex. ett blodprov från örsnibben eller fingertoppen, ska analyseras kan man välja det kapillära läget. Före analyseringen i det kapillära läget ska provet spädas 1:5 och aspireras på samma sätt som i det manuella läget. I det manuella slutna läget analyseras provet på samma sätt som det automatiska läget men provet ska blandas för hand. Detta läge kan också användas vid analys av andra kroppsvätskor än blod. Leukocyterna analyseras efter att erytrocyterna hemolyserats och söndrats. Falska leukocyttal kan förekomma om provet innehåller mycket erytroblastar, trombocytklumpar, lyserade erythrocyter eller agglutination. (Sysmex Corporation, 2007, 6:12, 6:13).

Tabell 1: Analysprinciper för Sysmex XE-5000

Analysprincip	Funktion	Reagens som används
RF/DC metoden	Mäter blodcellerna storlek.	IMI-reagens och Stromatolyser
Hydrodynamisk fokusering/ DC detektion	Räknar cellerna antal.	Cellsheat och Cellpack
Flödescytometri	Cellerna diffas och delas in i mognadsgrad.	Stromatolyser-4DL och Stromatolyser- 4 DS
SLS-hemoglobinmetoden	Bestämmer hemoglobinhalten i blodet.	Cellpack och Sulfolyser

Sysmex XE-5000 använder fyra olika analysmetoder; RF/DC metoden, hydrodynamisk fokusering eller DC detection, flödescytometri med halvledarlaser och SLS-hemoglobinmetoden. Dessa metoder kommer nu kort att behandlas i tur och ordning och finns dessutom uppräknade i tabellen ovan. (Sysmex Corporation, 2007, 1:1, 11:11).

Med hjälp av RF/DC metoden (Radio Frequency/ Direct Current) analyseras omogna celler i blodet. Metoden ger ett mått på blodcellernas storlek genom att läsa av förändringar i likspänningsresistansen (DC) medan den radiofrekventa resistansen (RF) ger mått på densiteten i blodcellernas inre. Provet späds med Stromatolyser-IM som hemolyserar erytrocyterna och angriper lipider i de mogna cellernas cellmembran, vilket gör att de mogna cellernas cytoplasma löses upp och minskar i storlek, medan de omogna cellerna förblir orörda. Blodprovet aspireras och för vidare till detektorkammaren. Kammaren är försedd med elektroder på vardera sidan. Mellan dessa elektroder flyter både en likström och en radiofrekvent ström. De utspädda blodkropparna passerar elektroderna och ger upphov till en förändring för strömmarna mellan elektroderna. Ett mått på förändringen ges. Den radiofrekventa resistansen är pulserad och på basen av pulsernas storlek ritas ett scattergram upp över blodcellernas storlek och inre densitet. (Sysmex Corporation, 2007, 1:1, 11:11, 11:20).



Figur 1: IMI- Scattergram där blodcellerna analyserats med RF/DC metoden. På Y-axeln visas den radiofrekventa resistensen och X-axeln visas förändringar i likspänningsresistansen (Sysmex, 2011).

Sysmex XE-5000 analyserar även med hjälp av hydrodynamisk fokusering eller DC detection. Hydrodynamisk fokusering används bland annat vid analysering av erytrocyterna och trombocyterna i blodet. Denna metod förbättrar cellräkningens noggrannhet och reproducerbarhet. Metodens princip är att reagenset, Cellsheat, i tur och ordning tvingar cellerna en åt gången genom en trång provöppning och vidare till uppsamlingsröret. Öppningen är trång vilket betyder att cellerna passerar öppningen i en linje och förhindrar felmätningar. (Sysmex Corporation, 2007, 11:11, 11:15).

Flödescytometri används för att analysera blodkropparnas och andra partiklars fysiologiska och kemiska egenskaper. Leukocyter, erythroblaster och retikulocyter analyseras och diffas med hjälp av ett optiskt detektorblock som baserar sig på fluorescensflödescytometri och en halvledarlaser. I analysatorn passerar cellerna genom en trång och känslig detektionspassage. När cellen passerar laserstrålningen sprids laserljuset samtidigt som antikroppsbinda fluorescenta molekyler sänds ut. Laserljuset omvandlas till elektriska signaler som registreras och gör en scattergramanalys möjlig. Vid detektionen träffas cellerna av laserljuset som dels sprids i förhållande till cellens storlek och volym, dels till viss del absorberas och återutsänds som fluorescensstrålning. Stromatolyser-4DL används som spädningsreagens tillsammans med färgningslösningen

Stromatolyser-4DS. Det tar ungefär 22 sekunder för erythrocyterna att hemolyseras och leukocyterna att färgas. (Sysmex Corporation, 2007, 1:1, 4:2, 4:3, 11:12, 11:13).

Sysmex XE-5000 använder SLS-hemoglobinmetoden (SLS = natriumlaurylsulfat) för att bestämma hemoglobinhalten. Natriumlaurylsulfat bildar ett stabilt komplex med hemoglobin som oxideras till methemoglobin, vilket gör hemoglobinhalten lättare att mäta. Provet späds först med reagenset Cellpack och blandas med reagenset Sulfolyser, som hemolyserar erythrocyterna. Hemoglobinet omvandlas till SLS-hemoglobin och mäts genom att ljus med våglängden 555 nm passerar genom provet. Innan provet späds så mäts spädningslösningens absorbans som sedan räknas bort från det slutliga svaret. (Sysmex Corporation, 2007, 4:4, 11:13, 11:16).

4.3 Immuncellernas roll vid en inflammation

Kroppen utsätts hela tiden av attacker från främmande organismer såsom bakterier, virus och svampar. Till sitt försvar har kroppen ett välfungerande immunsystem som skyddar oss mot attackerna. Immunförsvarets celler fungerar som poliser och finns utspridda i hela kroppen, både i blodet och i vävnaderna. Detta gör att försvaret kan reagera snabbt vid en attack, oberoende var attacken sker. (Lännergren, Westerblad, Ulfendahl & Lundeberg, 2007, 289).

Inflammation är en lokal reaktion på infektion eller skada. Inflammationsreaktionen är likadan vare det sig gäller bakterier, mekanisk påverkan, reaktion på kemiska substanser, värme eller liknande. Den funktion som inflammationsreaktionen utgör är att locka fagocyter och olika substanser att transporteras till det inflammerade området. De första cellerna som reagerar på inkräktare är makrofagerna som finns på plats i den infekterade vävnaden. I vissa fall klarar makrofagerna av attackerna själva men för det mesta behöver de förstärkning. Förstärkningen består av de neutrofila granulocyterna. De anländer till platsen inom en timme. (Lännergren, Westerblad, Ulfendahl & Lundeberg, 2007, 293).

En inflammation frisätter ämnen som får blodkärlen kring det inflammerade området att utvidgas. Detta leder till att fagocyter och andra ämnen som är viktiga i immunförsvaret, ex. plasmaproteiner, strömmar lättare till området. Det ökade blodflödet leder till rodnad och ökad värme. (Sand, Sjaalstad & Haug, 2004, 365).

Den tredje försvarlinjen består av monocytorna. Det tar betydligt längre tid för monocytorna att komma fram till infektionsområdet än vad det tar före de neutrofila granulocyterna. Dessutom tar det några timmar från det att monocytorna kommer in i vävnaden till det att de ombildas till makrofager. De makrofager som redan finns i vävnaden har förmåga att dela sig och ökar på det sättet. Efter hand ökar också monocytorna i blodet då benmärgen stimuleras att producera flera monocyter. (Sand, Sjaalstad & Haug, 2004, 365; Salmi & Meri, 2011, 19-21).

De neutrofila granulocyterna kan stoppa lindrigare infektioner och är mest effektiva i en ny infektion men vid en långvarig inflammation är det främst makrofagerna och lymfocyterna som dominerar i försvaret. (Sand, Sjaalstad & Haug, 2004, 365).

4.3.1 Granulocyterna

Det finns fem olika typer av leukocyter som alla skiljer sig från varandra gällande morfologi och uppgifter i immunförsvaret. De kan funktionellt delas in i två stora grupper: fagocyter och immunocyter. Till fagocyterna hör granulocyterna och monocytorna medan lymfocyterna räknas till immunocyterna. Till undergruppen granulocyter hör de neutrofila granulocyterna, eosinofila granulocyter och de basofila granulocyterna. (Hoffbrand, Moss & Pettit 2006, 94).

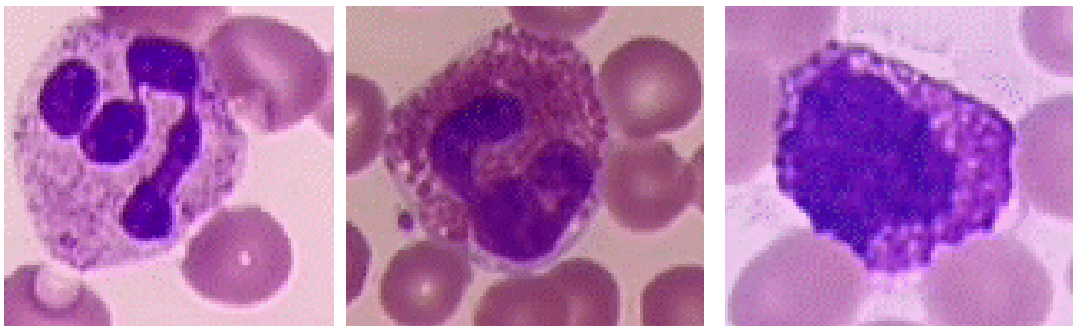
Namnet granulocyt kommer från latin och betyder litet korn. I mikroskop framkommer att cellens cytoplasma är kornigt och med hjälp av färgning kan man skilja på de tre olika granulocyterna. Giemsa-färgning är en standardlösning som används på många laboratorier vid identifiering av celler i mikroskop. Giemsa-lösningen innehåller ett basiskt och positivt laddat ämne som kallas metylenblått och ett annat negativt laddat ämne, eosin, som färgar rött. De eosinofila granulocyterna har en basisk granula och reagerar med sura färger så att de får en röd-orange färg på granula medan basofilerna innehåller surt heparin och binder istället basiska färger såsom mörkblått. De neutrofila granulocyterna

har fått sitt namn från att de är neutrala och binder båda färgtyperna. (Agger, Andersen, Leslie & Aasted 2006, 55-56).

De neutrofila granulocyterna bekämpar främst infektioner orsakade av bakterier. De utgör normalt 45-70 % av blodets leukocyter. De lockas till inflammerade vävnader av olika cytokiner som utsöndras av den inflammatoriska reaktionen. Detta kommer att tas upp senare i arbetet. I ett perifert blodutstryk, färgat med giemsalösningen, känns neutrofilerna igen av deras lilafärgade kärna som är indelade i 2-5 segment eller lober. Loberna hålls ihop av en tunn tråd. Cytoplasmat skiftar i blått och har inslag av små, lila korn. (Bain, 2008, 6-7).

Eosinofila granulocyter utgör normalt 1-4 % av blodets leukocyter men ökar i blodet vid en parasitinfektion eller en allergisk reaktion. De dödar inkräktande parasiter med hjälp av en giftig substans som finns i det eosinofila granulat. De eosinofila granulocyterna har även en förmåga att fagocytera och äter vissa bakterier som har antikroppar fästa på sig samt kroppens gamla och utslitna celler. (Henriksson & Rasmusson, 2007, 172).

Normalt finns det väldigt få basofila granulocyter i blodet, de utgör mindre än 1% av blodets leukocyter. De basofila granulocyterna kan passera från blodet in till vävnader och ansamlas i skadad vävnad. Här frisätter de, tillsammans med mastcellerna, ämnen såsom histamin och heparin. Histaminet orsakar inflammation som får kapillärerna att vidgas och blodflödet att tillta. Heparinet motverkar att blodet koagulerar. (Henriksson & Rasmusson, 2007, 172).

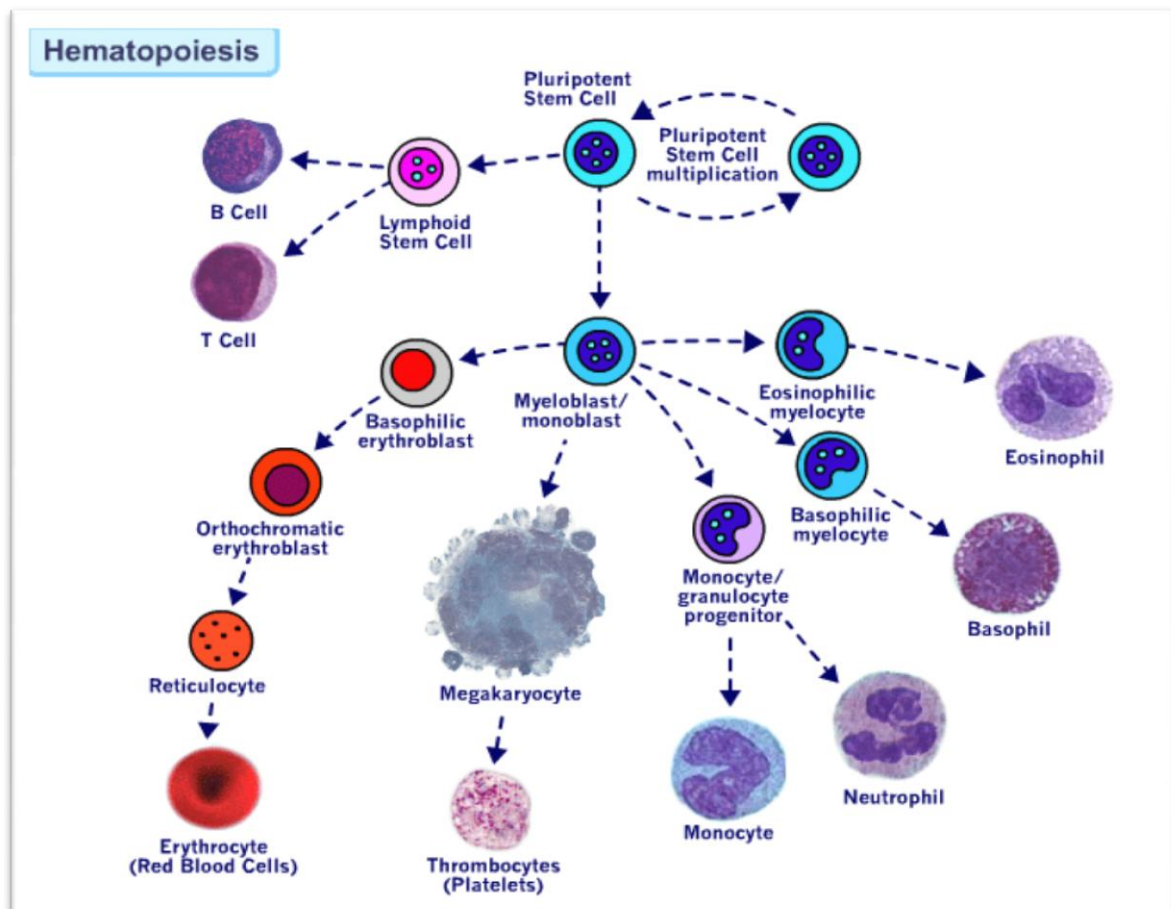


Figur 2. *Granulocyter i mikroskopförstoring.* Från vänster: Neutrofil, eosinofil och basofil granulocyt (Elementary hematology, 2011).

4.4 Blodcellernas utveckling

4.4.1 Hematopoesen

Med hematopoesen menas bildandet och utvecklingen av blodets celler. Hos vuxna människor sker detta främst i benmärgen. Alla blodceller utvecklas från benmärgens pluripotenta stamceller. Dessa stamceller har förmågan att förnya sig själva och producerar dagligen nya blodceller. När de pluripotenta stamcellerna delar sig bildas dels nya stamceller och dels två andra typer av celler. Figur 3 visar att från den pluripotenta stamcellen delas snabbt de olika cellinjerna upp. Från stamceller bildas myeloida och lymfoida celler. Från den myeloida cellinjen bildas i sin tur erythrocyterna och trombocyterna medan det från den lymfoida cellinjer utvecklas lymfocyter. Från myeloblasten bildas också granulocyterna och monocyterna i skilda linjer. Granulopoesen tas upp noggrannare senare i kapitlet. (Agger, Andersen, Leslie & Aasted, 2006, 45).



Figur 3: Hematopoesen (Amser 2011).

Benmärgen producerar dagligen ungefär 3 biljoner erythrocyter, 2,5 biljoner trombocyter och 1,5 biljoner granulocyter per kilogram kroppsvikt. Produktionen påverkas av kroppens behov och benmärgen kan producera ännu mera granulocyter om kroppen är utsatt för en infektion. En större blödning får på samma sätt benmärgen att producera flera erythrocyter än normalt. Delningen av stamcellerna regleras av cytokiner, specifika adhesionsmolekyler och tillväxtfaktorer. (Smith, 2007, 68).

4.4.2 Granulopoesen

Bildningen av granulocyterna sker i benmärgen och börjar med en myeloblast som utvecklas vidare till en promyelocyt. Myeloblasten står för cirka 1 % av benmärgens alla kärnförsedda celler. Utvecklingstadiet från myeloblasten till promyelocyten tar ungefär 15 timmar. Promyelocyterna i sin tur står för 3 % av benmärgens celler och utvecklas en aning långsammare, stadiet tar ca 24 timmar. Utveckling av myelocyten till metamyelocyten är nästa stadium som tar upp till 4,3 dagar. I myelocytstadiet börjar de olika granulocyterna skiljas åt till eosinofila, basofila och neutrofila granulocyter. (Turgeon 2005, 193).

Neutrofila granulocyter mognar i benmärgen och får en segmenterad kärna. I benmärgen kan mogna neutrofilerna finnas lagrade i 4-8 dagar. I de tre första stadierna av neutrofilens utveckling; myeloblasten, promyelocyten och myelocyten, har cellerna förmåga att dela sig medan det i de efterföljande stadierna inte kan dela sig men de differentierar och specialiserar sig däremot till andra celler. Hela processen, från att cellen börjar bildas till att den släpps ut från benmärgen, tar upp till 14 dagar. Dagligen frisätts 10^{11} neutrofiler till blodomloppet. I blodomloppet lever de 6-8 timmar och utgör normalt ungefär 60 % av blodets leukocyter. I vävnader kan en neutrofil granulocyt leva ett par dagar om de inte fagocyterar eller stimuleras till apoptos. (Scher, Abramsteon & Pillinger, 2010, 39).

Efter att de neutrofila granulocyterna bildats i benmärgen frisätts de till blodcirkulationen. Här delas de in i två pooler, den marginella poolen och cirkulationspoolen. Normalt innehåller dessa pooler ungefär samma mängd celler och neutrofilerna kan fritt flytta sig mellan poolerna. Neutrofilerna i den marginella poolen är löst fästa vid blodkärlväggen och kan lätt flytta sig till den cirkulerande

poolen efter hormonell stimuli eller igenkännande av bakteriella endotoxiner. Till den marginella poolen räknas också celler som håller på att förflytta sig in i vävnaden. Till cirkulationspoolen hör de celler som cirkulerar i blodet. Neutofilens kinetik tas upp senare i arbetet. (Buescher, 2005, 255).

4.4.3 Granulas utveckling

Granulocyternas granula har som främsta uppgift att fungera som bakteriedödande. Granulat frisätts då granulocyten fagocyterar. Mera om fagocytosen tas upp senare i kapitlet. Utvecklingen av granulocyternas granula startar redan tidigt i promyelocytstadiet. I det första skedet är granulat rikt på myeloperoxidas, ett enzym som katalyserar bildningen av hypoklorsyra. Syran i sin tur är mikrobödande. Den här typen av granula brukar kallas azurofilt granula eller primär granula. Granulatet innehåller sura hydrolas och antibakteriella proteiner som dödar och nedbryter mikroorganismer. Det azurofila granulatet innehåller även bakteriedödande protein som har en viktig del i att oskadliggöra och döda gramnegativa bakterier. Cellen utvecklas vidare till en myelocyt. I detta skede börjar peroxidasnegativt granula bildas. På basen av granulas utseende och innehåll delas det in i två grupper: det specifika eller sekundära granulatet och gelatinasgranula. Det specifika granulatet bildas i myelocyten medan gelatinasgranula utvecklas senare i myelocyten och metamyelocyten. Det specifika granulatet innehåller framför allt laktoferrin som binder järn och på det sättet dödar bakterier eftersom bakterierna är beroende av järn för att överleva och föröka sig. Granulat innehåller även enzymet lysozym som spjälkar peptidglykan i bakteriens cellvägg och får bakterien att dö ut. Gelatinasgranulat i sin tur bryter ned vävnadsmatrix och gör det lättare för neutrofilen att sig igenom kärlväggar och vävnader. En fjärde kategori av granula, utsöndringsblåsorna eller de sekretoriska vesiklarna, är mindre än de andra och uppkommer under det senare stadiet av neutrofilernas segmentering av kärnan. Vesiklarna utgör ett lager för membranproteiner. (Scher, Abramson & Pillinger, 2010, 40; Cassatella, 2010, 52).

De neutrofila granulocyterna kan frisätta en eller flera typer av granula vid en inflammation. Vilket granula som frisätts beror på styrkan av inflammatoriska stimuli och signaler. Svagt stimuli leder endast till att vesiklerna mobiliseras till membranet medan starkare stimuli frisätter gelatinasgranula medan det krävs ännu starkare stimuli att frisätta det specifika granulat. Den sista och starkaste attacken neutrofilerna frisätter är det azurofila granulat. De sekretoriska vesiklerna frisätts främst när neutrofilerna har direkt kontakt med endotelcellerna. (Mölne & Wold, 2007, 50).

4.4.4 Cytokiner

Cytokiner är små proteiner som är jämförbara med hormoner och har som funktion att verka som budbärare mellan celler. Cytokiner påverkar många olika typer av celler och har stor effektivitet. De utsöndras ofta av immuncellerna, såsom lymfocyter, makrofager, endotelceller och fibroblaster men ett fåtal cytokiner är membranbunda. Cytokiner stimulerar lokalt i vävnader men stimulerar även blodbildningen genom att reglera utvecklingen, tillväxten och differentieringen av stamcellerna. Speciella cytokiner inhiberar även bildning om det behövs. Under normala förhållande bildas de hematopoetiska cytokinerna lokalt av benmärgens stromaceller. Men under patofysiska förhållanden, såsom vid infektion eller inflammation, produceras cytokinerna även i flera olika vävnader. Det finns över 20 kända hematologiska cytokiner, däribland interleukiner, erytropoetin och tillväxtfaktorn G-CSF. Vissa cytokiner verkar enskilt medan andra cytokiner behöver stimulans av någon annan cytokin för att aktiveras. (Olsson, 2006, 332-333).

CSF, eller kolonistimulerande faktor, produceras av många olika celler och har en hög effektivitet även vid små mängder. G-CSF påverkar stamcellerna att utveckla granulocyter och hjälper dem också att mogna, medan GM-CSF främst påverkar den cellinje där monocyterna utvecklas. Forskning har visat vikten av denna cytokin genom försök på knockoutmöss. Om genen för G-CSF tas bort från mössen leder det till garanterad neutropeni, vilket visar på att cytokinet har en specifik roll i blodbildningen. (Olsson, 2006, 332-333).

För att cytokinerna ska kunna påverka sin målgrupp måste det finnas cytokinreceptorer som känner av cytokinerna. Dessa cytokinreceptorer består av ligander som binder till en alfakedja och en betakedja. Det krävs att två receptormolekyler kommer i kontakt med varandra för att signaleringen av cytokinerna ska kunna ske. Denna funktion med cytokinreceptorer gör att endast målgruppen reagerar och inga onödiga reaktioner sker. Själva signaleringen sker med hjälp av specifika proteiner som fosforyleras. Med fosforylering menas att en fosfatgrupp sätts fast vid en aminosyra i proteinkedjan. (Olsson, 2006, 332-333).

4.5 Den neutrofila granulocyten

Den neutrofila granulocyten mest karaktäristiska drag är dess rörelseförmåga och vandring mellan blodet och vävnaden. Detta är nödvändigt för att neutrofilen ska kunna fullgöra sin uppgift i immunförsvaret, vilket är att äta upp skadade celler och mikroorganismer, städa bort rester och initiera läkning. För att neutrofilen ska kunna jobba måste den smidigt kunna ta sig in i vävnaden där en infektion härjar. I blodomloppet är neutrofilerna inaktiva och aktiveras först då de anlärt till vävnaden. Cytokiner, som främst bildas av macrofagerna vid en vävnadskada eller vid en mikrobinfektion, får neutrofilerna att lockas till inflammationsstället. TNF (tumor necrosis faktor) aktiverar neutrofilerna så att de anländer till inflammationsstället aktiva och redo att börja oskadliggöra och fagocytera inkräktarna. (Sompayrac, 2003, 20-21).

4.5.1 Neutrofilens kinetik

Blodkärlens väggar kantas av vaskulära endotelceller som på ytan har proteiner, ICAM eller intracellulära adhesionsmolekyler. Neutrofilerna i sin tur täcks av en annan adhesionsmolekyl, selektin ligand. I ett normalt läge är flödet i blodkärlen skiktat, dvs. att blodplasman rör sig långsamt längs kärlväggen medan blodkropparna strömmar med en högre hastighet i mitten av blodkärlet. En inflammationsreaktion gör att kärlväggens muskelceller slappnar av och blodflödet bromsas upp. Neutrofilerna har då möjlighet att komma närmare kärlväggen och

dess endotelceller. Inflammationsreaktionen aktiverar också de specifika cytokinerna Interleukin 1 och TNF. Endotelcellernas adhesionsmolekyler i blodkärlen kring inflammationsområdet reagerar på cytokinerna och börjar tillverka membranproteinet selektin. Komplementfaktorerna i sin tur får neutrofilerna att aktiveras och börja utveckla integrin, i sitt membran. Selektin interagerar med selektin ligand och får neutrofilerna att fästas till endotelcellerna och neutrofilerna börja rulla och studsa längs kärlväggen. Bindningen mellan selektin och selektin ligand är svag och bryts lätt. Därför kan neutrofilen bindas, brytas loss för att sedan bindas på nytt länge fram i blodkärlet. (Sompayrac, 2003, 20-21; Mölne & Wold, 2007, 132).

I nästa steg av neutrofilens kinetik klyvs selektinet från cellens yta och cellen har möjlighet att hitta mellanrummen mellan endotelcellerna för att komma igenom in i vävnaden. Detta är möjligt på grund av att neutrofilen skickar ut ett utskott, en pseudopod, som tränger igenom vävnaden. För att komma in måste neutrofilen vara flexibel och tillfälligt ändra form eftersom mellanrummen mellan endotelcellerna är väldigt små. När den neutrofila granulocyten väl är inne i vävnaden orienterar den sig till infektionsområdet med hjälp av bland annat matrixproteinerna fibronectin och laminin som samverkar med integrin på neutrofilernas cellyta. Även cytokiner är viktiga för cellens orientering. Dessa kemotaktiska faktorer binder till receptorer på cellens membran och cellen rör sig med hjälp av aktinfilament precis på samma sätt som muskelcellerna arbetar. Neutrofilen rör sig i den riktning där de kemotaktiska faktorerna finns mest av. (Sompayrac, 2003, 20).

De neutrofila granulocyterna som flyttat sig till vävnaden går aldrig tillbaka till blodet utan de dör antingen genom apoptos eller nekros. Apoptos innebär programmerad celldöd eller självmord som cellen gör med inverkan av stimuli utifrån medan nekros anses då cellen dör i mikrobefall eller av läckage av granula eller cytoplasma till vävnaden. De döda neutrofilerna äts upp av makrofagerna. Överskott av neutrofiler i vävnaden ska avlägsnas så snabbt som möjligt eftersom neutrofilens innehåll naturligt släpps ut i vävnaden när neutrofilen dör. Dess granula skadar vävnaden omkring och det leder till en ökad risk för en uppblommande inflammationreaktion. För att undvika detta måste makrofagerna ta hand om neutrofilerna så snabbt som möjligt. (Mölne & Wold, 2007, 136).

Hela det invecklade system med immunförsvaret och dess celler behövs för att immunsystemet ska vara säkert och inte göra många misstag. Om det vore enklare skulle till exempel en liten endotelcell kunna få ett fel och kunna starta en hel inflammationsreaktion helt utan orsak. Men detta invecklade system med många olika steg får immunförsvaret att reagerar rätt men ändå snabbt när det verkligen gäller. Det tar upp till 6 timmar för selektin att bildas i neutrofilernas membran. Detta är en form av säkerhetsåtgärd. Vissa attacker av mikroorganismer består endast av ett fåtal av inkräktare som makrofagerna själv kan ta hand om. Skulle neutrofilerna komma till platsen direkt skulle de starta en häftig reaktion i onödan. (Sompayrac, 2003, 21).

4.5.2 Fagocytosen

Fagocytosen är neutrofilernas huvudsakliga uppgift men till fagocyter räknas, som nämnts tidigare, även monocytorna eller makrofagerna. Fagocytos innebär att fagocyterna äter upp främmande organismer och inkräktare. Fagocytosen börjar med interaktion mellan komponenter på fagocyternas membran och på den främmande mikrobens yta. Fagocyten känner, med hjälp av receptorer i membranet, igen olika saker på mikrobens yta såsom speciella kolhydrater, komplement, antikroppar osv. Interaktionen mellan fagocyten och mikroben aktiverar mikrofilament som får fagocytens cellmembran att bilda en fagosom, ett omvänt membranlager. Med hjälp av fagosomen omsluter fagocyten den främmande organismen, ungefär som ett kardborreband. Neutrofilens granula smälter samman och innehållet töms ut och dödar bakterien. (Agger, Andersen, Leslie & Aasted, 2006, 134-135).

Fagocytosen är en aktiv process som är mycket energikrävande. Energin kommer främst från anaerob glykolys. En faktor till en lyckad fagocytos av bakterier är att bakterien måste vara mera hydrofob än den fagocyterande cellen. Vissa bakterier kan inte fagocyteras, till exempel *Streptococcus Pneumoniae* är omgiven av en hydrofil kapsel och kan inte fagocyteras normalt av immunförsvarets celler. (Turgeon, 2005, 198-199).

Degranulering innebär att granulocyterna transporterar ut sitt granula till cellmembranet där dess innehåll släpps ut och dödar inkräktarna. Degranulering liknar fagocytosen på flera punkter. Dels så krävs det stimuli för granulocyten att släppa ut sitt granula och dels så sker detta lokalt. (Agger, Andersen, Leslie & Aasted, 2006, 134-135).

Fagocytos av partiklar kan indelas i två mekanismer: syreberoende och syreoberoende. Den syreberoende mekanismen omfattar ett flertal inflammatoriska molekyler, däribland väteperoxid (H_2O_2), en hydroxylradikal (OH) och hypohalogeniderna OCl^- och OI^- . Dessa molekyler oxiderar och förstör lipider och proteiner. Processen startar med att elektroner från koenzymet NADPH (reducerat Nikotinamid-adenin-dinukleotidfosfat) överförs till O_2 så att det blir superoxidradikalen O_2^- . Dessa superradikaler reagerar med varandra och bildar, tillsammans med vätejoner, väteperoxid. Väteperoxid i sin tur reagerar och bildar hydroxylradikaler eller hypohalogenider. Denna invecklade kombination är toxiskt för många mikroorganismer. Syrekombinationen skadar cellmembranet och inaktiverar mikroorganismernas enzymer och splittrar DNA kärnan. (Agger, Andersen, Leslie & Aasted, 2006, 136).

Till den syreberoende mekanismen behövs fyra olika faktorer: lågt pH, lysosym, basiska proteiner och laktoferrin. Lysosym är ett enzym som fagocyterna har i sitt granula och som används till att bryta ner peptidoglykaner och därmed lysera grampositiva bakterier. De basiska proteinerna hittas främst i de eosinofila granulocyternas lysosomer och dessa proteiner förstör måcellernas membran genom att klistra sig fast vid membranets lipider. Laktoferrin hjälper till bekämpningen av bakterier genom att fästa sig vid järn. Järnet är nödvänligt för att bakterierna ska kunna överleva och föröka sig. (Agger, Andersen, Leslie & Aasted, 2006, 136).

4.6 Värden utanför referensområdet

Ett genombrott i Norden när det gäller referensområden skedde år 2003. Då kom man överens om nya gemensamma referensvärden för laboratorieundersökningar. Målet var att minska missförstånd och öka samarbetet mellan länderna. Prover från över 100 laboratorier i Norden samlades in av friska människor utan medicinska behandlingar. 25 kemiska analyser samt hematologiska analyser behandlades och referensvärden togs fram. Nedan visas en tabell där B-leukocyternas referensområde jämförs med projektet resultat (NORIP), tidigare värden samt det finska referensvärdet som idag används vid Vasa centralsjukhus. (Simonsson, Mårtensson & Rustad, 2004).

Tabell 2: Referensvärden för B-Leukocyterna. Tidigare värden och nuvarande värden.

Källa	Referensvärde
NORIP, 2004	3,5-8,8
Klinisk kemi, Laurell, 7th edition	4,0-10,0
Hematology, Clinical and Laboratory Practice, Editors: Bick , Mosby 1993	4,5-11,0
Williams Hematology, Editors: Bentler , Mc Graw-Hill, 6th edition, 2001	4,4-11,0
Practical Haematology, Editors: Lewis S M , Churchill Livingstone, 9th edition, 2001	4,0-10,0
Vasa centralsjukhus, Laboratoriehandboken, 2011	3,4-8,2

Norip (2003); Laboratoriehandboken, Vasa Centralsjukhus (2009)

4.6.1 Neutropeni

Neutrofilantalet hos en frisk vuxen människa ska ligga på ett värde av $2.1 - 6.5 \cdot 10^9 / L$. Halten neutrofiler i blodet varierar naturligt beroende på dygnets tidpunkt och patientens fysiska och känslomässiga tillstånd. Neutropeni definieras av att halten neutrofila granulocyter understiger $0,5 \cdot 10^9 / L$. Neutropeni beror på antingen en minskad benmärgsproduktion, ökad destruktion av de neutrofila granulocyterna eller en omfördelning av cellerna från den cirkulerande poolen. Neutropeni kan vara akut eller kronisk. En patient har kronisk neutropeni om symptomen varar längre än tre månader, om sjukdomstiden är kortare räknas det som en akut neutropeni. Svårighetsgraden av neutropeni indelas ofta i lätt neutropeni (neutrofilernas antal $1,0-1,5 \cdot 10^9 / L$), måttlig neutropeni ($0,5-1,0 \cdot 10^9 / L$) och svår neutropeni ($<0,5 \cdot 10^9 / L$). (Dale & Liles, 2003, 465).

En vanlig orsak till neutropeni är en bakterieinfektion. När kroppen attackeras av bakterier reagerar den med motattack. Men om infektionen är kraftig räcker inte blodets neutrofiler till utan kroppens reservlager av neutrofiler kallas in istället och om det inte hinner blidas tillräckligt mycket neutrofiler leder det till en tillfällig neutropeni. (Dale & Liles, 2003, 465).

Med neutropen feber menas tillståndet en patient med hög feber ($> 38^\circ C$) har tillsammans med låga neutrofilantal. Feber och det låga antalet neutrofiler i blodet har ett samband när immunförsvaret blir svagare av till exempel cytostatika och kroppen blir mera mottaglig för mikrober. Ungefär 65 % av patienter med neutropenisk feber har en infektion orsakad av bakterier. Även en liten bakterieinfektion kan göra en patient med neutropeni sjuk. Oftast är det fråga om grampositiva bakterier. Neutropen feber borde alltid tas i beaktande, det har visat sig att obehandlad neutropenisk feber har en mortalitet på upp till 70 %. (Poznansky & Vianello, 2008, 127-128).

Svår medfödd neutropeni eller Kostmanns syndrom är en långvarig, kronisk, neutropeni som beror på en mutation i en viss gen. Denna gen kodar för ett protein som finns i mitokondrierna och som skyddar cellen för apoptos, vid Kostmanns syndrom gör neutrofilerna apoptos och dör för tidigt innan de hunnit arbeta. Genfelet är ärftligt och finns inom vissa familjer. De första symptomen ses hos nyfödda där barnet drabbas av feber och svåra bakterieinfektioner.

Sjukdomen behandlas med tillväxtfaktorer såsom G-CSF som tas dagligen för att upprätthålla neutrofilantalet. Behandlingen är god och mer än 90 % av patienterna svarar positivt på behandlingen. Behandlingen botar dock inte sjukdomen. I de fall där inte tillväxtbehandling hjälper kan en benmärgstransplantation göras men det medför stora risker så vanligtvis görs det inte. (Dale & Liles, 2003, 466).

Cyklisk neutropeni är en sjukdom där neutrofilantalet minskar dramatiskt och regelbundet var tredje vecka och då vara i 3-6 dagar. Cyklisk neutropeni är resultatet av en autosomalt dominant mutation. Under perioden av neutropeni är patienten extra utsatt för bakterieinfektion ofta av feber och svaghet. Diagnosen av cyklisk neutropeni kan vara svår att diagnostisera, speciellt hos småbarn. Diagnosen fastställs genom upprepade blodprov där neutrofilantalet mäts under en period av 6-8 veckor. Ett annat alternativ är att göra en PCR- analys och söka efter genmutation. Sjukdomen behandlar med tillväxtfaktorer på samma sätt som medfödd neutropeni. (Dale & Liles, 2003, 466).

Det finns även andra medfödda neutropenier såsom Chédiak Higashis syndrom, Griscellis syndrom, Shwachmann–Diamonds syndrom, Cohens syndrom eller Barths syndrom. WHIM- syndrom är en sällsynt men intressant sjukdom som beror på en genmutation. Sjukdomen leder till att de neutrofila granulocyterna saknas helt eller att det finns endast ett fåtal av dem i blodet. Alla medfödda neutropenier beror på genmutationer. Figur 4 visar en tabell på neutropenier. (Dale & Liles, 2003, 466).

Personer med afrikanskt eller arabiskt ursprung har ett neutrofilantalet som normalt ligger $0,2 - 0,6 \cdot 10^9/L$ lägre än den västerländska populationen. Om neutrofilantalet stabilt ligger under $1,5 \cdot 10^9/L$ hos en frisk människa med afrikanskt eller arabiskt ursprung kallas det benign etnisk neutropeni. Forskning har visat att benign etnisk neutropeni även kan förekomma hos den vita populationen, men det är inte lika vanligt. Benign etnisk neutropeni är kliniskt annorlunda än de andra formerna av neutropeni. Den här typen av neutropeni är inte förknippad med ökad infektionsrisk och även fast neutrofilnivån i blodet är sänkt är monocytorna och lymfocyterna inom referensramarna. Benign etnisk neutropeni behandlas vanligtvis inte. (Hsieh, Tisadale & Rodgers, 2010).

Orsaken till benign etnisk neutropeni är inte klarlagt men forskning har visat att det inte beror på en biologisk avvikelse. Datamodellering av stamceller visar att antalet stamceller är lika oberoende sorten av däggdjur. I forskningen undersöktes möss, katter och primater. Eftersom livslängden för däggdjur är olika borde även stamcellernas antal variera. Detta visar att stamcellerna hos olika folkgrupper sannolikt är liknade varandra. Människor med benign etnisk neutropeni har en normal stamcellsproduktion och mognadsprocess men en mindre mängd neutrofiler i benmärgen vilket i sin tur påverkar neutrofilantalet i blodet. Antagligen beror benign etnisk neutropeni på en genmutation. För att kunna ge cytostatikabehandling måste det först utredas om patienten har benign etnisk neutropeni eftersom behandlingsgränsen är annorlunda. (Hsieh, Tisadale & Rodgers, 2010).

Förvärvad neutropeni skiljer sig en aning från medfödd neutropeni. Med förvärvad neutropeni anses när neutropeni kommer som en följd av någon annan sjukdom eller brist. Akut myeloisk anemi, myelodysplastiskt syndrom, kronisk lymfatisk leukemi eller aplastisk anemi är exempel på sjukdomar som drabbar benmärgen och dess funktion. Detta leder till att även neutrofilerna påverkas och minskar i blodet. Cytostatikabehandling och vissa mediciner kan också ge upphov till neutropeni. På samma sätt kan undernäring orsaka neutropeni direkt eller via brist på folsyra eller B12. (Dale & Liles, 2003, 465).

Mikrobinfektioner orsakade av bakterier, virus eller parasiter kan ge upphov till neutropeni. Flera olika mekanismer kan leda till neutropeni däribland kan mikrobernas angrepp leda till autoimmuna antikroppar som inte bara minskar antalet neutrofiler i blodet utan också påverkar benmärgens produktion så att den släpper ut fler omogna celler än normalt i blodet. En del mikrober kan även producera toxiner som slår ner benmärgens produktion av neutrofila granulocyter och det i sin tur leder till för lågt antal av neutrofiler i blodet. Infektioner som drabbar mjälten kan leda till splenomegali, vilket innebär att mjälten blir överaktiv och kommer att bryta ner blodcellerna i för hög takt som också i sin tur leder till minskade celler i blodet. (Hannon, Pooler & Mattson, 2009, 294).

Autoimmun neutropeni uppkommer då kroppens egna antikroppar attackerar immunförsvarets neutrofiler och fäster sig på deras antigen. Antikroppar kan också i vissa fall angripa benmärgens stamceller och leda till autoimmun neutropeni. Primär autoimmun neutropeni är en sällsynt sjukdom och drabbar främst små barn. Sjukdomstillståndet är ofta godartat och kännetecknas av måttliga bakterieinfektioner. I 95 % av fallen sker en spontan förbättring vid åldern 2-3 år. Behandlingen av patienter med autoimmun neutropeni inriktas främst på att åtgärda de bakterieinfektioner som är återkommande hos patienterna. (Hannon, Pooler & Mattson, 2009, 294).

<p>Medfödda neutropenier</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kostmanns syndrom • Cyklisk neutropeni • Chédiak–Higashis syndrom • Shwachman–Diamonds syndrom • Cohens syndrom • Barths syndrom • WHIM-syndromet • Agammaglobulinemi • Svår kombinerad immundefekt • Benign etnisk neutropeni 	<p>Immunologiskt betingad neutropeni</p> <ul style="list-style-type: none"> • Autoimmun neutropeni • Large granular lymphocyte (LGL)-syndrom <p>Infektioner</p> <ul style="list-style-type: none"> • Virusinfektioner (t ex influensa, parvovirus, hepatit, HIV) • Malaria <p>Övrigt</p> <ul style="list-style-type: none"> • Brist på vitamin B12 eller folsyra, anorexi • Läkemedel • Leukemi • Aplastisk anemi
---	--

Figur 4: *Neutropenier*. (Carlsson, Garwicz, Nordenskjöld, Fadeel, Palmblad & Henter, 2006).

4.6.2 Neutrofili

Neutrofili, eller granulocytosis, är motsatsen till neutropeni, neutrofili syftar alltså på att antalet neutrofiler överstiger referensområdet. Ett värde över $7,5 \cdot 10^9/L$ räknas som neutrofili. För att påvisa neutrofili krävs endast räkning av blodcellerna (I Finland: B-PVK). Den vanligaste orsaken till neutrofili är en bakterieinfektion eller en inflammationsreaktion. Vanligtvis så beror neutrofili på en ökad produktion och utsläpp från benmärgen men kan också bero på en ökad mobilisering av marginalpoolen (se s. 16). Den senare orsaken kan i sin tur bero på till exempel kraftig ansträngning, svår smärta eller ökad adrenalinhalt i blodet, i det fallet är det fråga om en akut neutrofili som uppkommer inom några minuter. Glukokortikoider som kan användas i medicinskt syfte ökar också antalet neutrofiler i blodet genom att stimulera utsläppet av neutrofiler från benmärgen. (Dale & Liles, 2003, 471).

Naturligt varierar leukocyttantalet i samband med människans ålder. Hos nyfödda mäts ett högre leukocyttantal och nivån är högre under hela ungdomstiden. Vid en ålder på 18 år blir leukocytnivån stabilare och är normalt samma under hela vuxenåldern. Alla människor har ju naturligt inte heller samma nivå av leukocyter utan det skiljer sig förstås från människa till människa. Skillnaden mellan män och kvinnor är inte stor men det har visat sig att kvinnor i fertil ålder har någon högre neutrofilantal än männen, men värdet sjunker efter menopausen. Under graviditet stiger neutrofilvärdet och är som högst två månader innan förlossningen. (Ruutu, Rajamäki, Lassila & Porkka, 2007, 95).

4.6.3 Granulocytfunktionsrubbningar

De neutrofila granulocyterna är celler som hela tiden förnyas och utvecklas. Det gör att det lätt kan bli en felaktig utveckling och skapa störningar i deras funktion i immunförsvaret. Rubbningar i granulocyternas funktion kan, på samma sätt som neutropeni, delas in i en medfödd och en förvärvad form. Likheten till neutropeni är stor eftersom symptomen med bakterie- och svampinfektion är den samma. Som ett exempel på en granulocytfunktionsrubbning kan kronisk granulomatös sjukdom nämnas. Denna sjukdom uppkommer i tidig barndom och leder till livshotande infektioner, främst i lungorna, levern och huden. Orsaken till sjukdomen är en brist på det oxidas som producerar syreradikaler i granulocyten. Detta oxidas behövs

för att granulocyten ska kunna fagocytera (neutrofilens fagocytos behandlades i kapitel 4.5) Det finns tyvärr ingen botande behandling i dagens läge mot sjukdomen men lindring och minskning på symptom ges genom antibiotika och infektionsprofylax. Benmargstransplantation kan ges åt patienter som är hårt drabbade. Andra rubbningar som kan förekomma är brist på ytproteiner på cellen, nedsatt funktionsförmåga när det gäller fagocytos eller att cellerna har svårt att fästa sig på blodkärlsväggen och börja den nödvänliga rullningen. Men dessa rubbningar är inte så vanliga. (Palmblad, 2006, 358-362).

4.7 Läkemedels inverkan på neutrofilerna

Tumörsjukdomarna ökar ständigt i världen men lyckligtvis ökar även kunskapen om cancer och behandlingsmetoder. Det leder till att dagens cancerpatienter lever allt längre och har bättre framtidsutsikter, men cancer är ändå en allvarlig sjukdom där drygt hälften av de insjuknade dör.

4.7.1 Kemoterapi och neutrofilerna

Bröstcancer är den vanligaste formen av cancer hos kvinnor och prostatacancer är den mest förekommande cancerformen hos män. För att en cell ska bli en cancercell eller tumörcell krävs ett flertal mutationer i de gener som reglerar celltillväxten. En tumörcell har förmåga att kunna växa och dela sig utan påverkan av yttre faktorer, de blir oberoende och växer obehindrat. De lyssnar till exempel inte på tillväxthämmande signaler och har mekanismer som gör att de undgår apoptos. (Klein, Firberg & Wiman, 2008, 43).

Leukemi eller blodcancer kan uppkomma av framkallande faktorer, såsom strålning, kemisk agens eller virus. Inkubationstiden kan vara flera år men faktorerna leder till genetiska förändringar och gör att cancerceller uppkommer i benmärgen och sprider sig i många fall vidare till blodbanan. Cellförändringen är klonal och utgår från en enda leukemistamcell som får ett övertag i produktionen. Normalt råder balans mellan celltillväxt och differentiering men vid leukemi uppstår

en obalans som leder till en blockering av differentieringen. Cellernas svar på impulser till apoptos minskar också. Mekanismen för leukemicellens utveckling är i mycket fortfarande okända. (Olsson, 2006, 334-335).

Kemoterapi eller cytostatika är en läkemedelsbehandling mot cancer. Kemoterapi används vid många tumörsjukdomar och behandlingen tar död på celler i kroppen som delar sig snabbt. Eftersom tumörceller förökar sig snabbt så bromsar kemoterapi deras utveckling men även andra snabbväxande celler i kroppen påverkas negativt av behandlingen, såsom hår- eller blodceller. Neutropeni och infektion är därför vanliga biverkningar av kemoterapi eftersom kroppens naturliga immunförsvar bryts ner och inte kan fungera normalt. Neutropeni har ett nära samband med infektion eftersom neutrofilerna står för en stor del av kroppens immunförsvar mot mikrober och ett lågt antal neutrofiler leder till att mikroberna kan attackera och invadera kroppen utan större motstånd. Det är därför viktigt att följa upp neutrofilantalet i blodet hos en patient som behandlas med cytostatika eftersom ett för lågt neutrofilantal kan vara farligt och till och med dödligt för patienten. Neutrofilantalet måste vara över $1,5 \cdot 10^9/L$ dagen före en cytostatikabehandling startar. (Foote & Morstyn, 2009, 569).

På senare tid har det bedrivits en del forskning om neutrofilernas inverkan på tumörceller. Det finns data på att neutrofilerna kan delta i tumörens metastasering och utveckling genom deras rekrytering till tumörcellen och neutrofilernas aktivitet kan leda till genmutationer. Detta betyder att det kan vara en bra komplettering till dagens cancerbehandlingar att kunna förhindra neutrofilernas påverkan i tumörutvecklingen. En sådan behandling skulle kunna minska neutrofilernas rekrytering till tumörcellerna och på det sättet minska tumörcellens utveckling. Men detta är fortfarande endast en teori och fortsatt forskning krävs. (Tazzyman, Lewis & Murdoch, 2009).

4.7.2 Cancerläkemedel och neutrofilerna

Neutropeni som uppkommer av användning av läkemedel har ökat markant under de senaste åren. Detta beror i första hand på att det används mer och mer läkemedel i dagens läge och användning ökar hela tiden, dessutom upptäcks nya läkemedel och många av dem påverkar blodcellerna i negativ bemärkelse.

Speciellt kemoterapi, som används i bekämpningen av cancer, kan ofta leda till neutropeni. Risken att utveckla neutropeni beror på olika orsaker. Ju äldre patienten är desto större risk är det att han drabbas av neutropeni, dessutom påverkas patientens näringsupptag och allmänna kondition blodcellernas antal. Andra påverkande faktorer är vissa biverkningar av läkemedel till exempel nedsatt njurfunktion. Kemoterapi kan ha inverkan på benmärgens produktion och i sin tur minska produktionen av neutrofiler. (Hannon, Pooler & Mattson, 2009, 295).

Läkemedelsindustrin kommer hela tiden på nya mediciner och behandlingar som döda bakterier och andra mikrober. Eftersom en bakteriecell inte har så mycket gemensamt med en human cell är det lättare att hitta ett läkemedel som ingriper och dödar mikrober utan att skada människans egna celler. Ett läkemedel för cancer är knepigare att hitta eftersom cancerceller ursprungligen är likadana som normala humana celler. För att döda cancerceller måste det finnas en hårfin balansgång där läkemedlet dödar så många cancerceller så att tumören elimineras samtidigt som kroppens normala celler hålls vid liv och kan fungera normalt. De vanligaste cytostatikagrupperna kan delas in i fyra grupper, platinaföreningar, topoisomerashämmare, antimetaboliter och mitoshämmare. Dessa kommer nu att behandlas men det är värt att komma ihåg att det finns flera läkemedel som inte tas upp här. För att få en tydligare bild har cytostatikagrupperna satts in i en tabell nedan. (Hansson, Hendriksson, Peterson, 2008, 184-185).

Tabell 3: De vanligaste cytostatikagrupperna.

Cytostatikagrupp	Inverkan	Verksamma ämnet	Exempel på läkemedel
Platinaföreningar	Stör cellernas DNA-struktur genom strängbrott och tvärbindingar.	Cisplatin	Cisplatin Accord®, Cisplatin Ebewe®
Topoisomerashämmare	Stör cellernas DNA-struktur genom strängbrott.	Daunorubicin	Daunoxome®
Antimetaboliter	Stör ämnesomsättningen.	Mekaptopurin, Kladribin	Leustasin®
Mitohämmare	Hämmar mitosen.	Vinblastin, Paklitaxel	Velbe®, Taxol®

Platinaföreningarna är cytostatika som påverkar cellernas DNA-struktur. De binder till en eller två baser i DNA och gör ett så kallat strängbrott och tvärbindingar. Detta hämmar DNA-replikationen och transkriptionen. Platinaföreningarna kan också få tumörcellerna att göra apoptos. (Hansson, Hendriksson & Peterson, 2008, 190).

Cisplatin är ett läkemedel som innehåller platina, är det verksamma ämnet i till exempel Cisplatin Accord® och Cisplatin Ebewe®. Efterföljarna till cisplatin är karboplatin och oxalinplatin. De sistnämnda ger färre biverkningar än cisplatin, och är även lika effektiva när det gäller botandet av vissa cancertyper, till exempel ovarie- eller lungcancer. Cisplatin har en enkel struktur och slipper enkelt och effektivt genom cellmembran. Cisplatin är ett mycket illamåendeframkallande läkemedel och njurtoxiskt, vilket leder till att njurfunktionen noggrant måste kontrolleras vid en behandling med cisplatin. Karboplatin å andra sidan är inte lika njurtoxiskt men däremot drabbar den benmärgens naturliga funktion medan det tredje platinaläkemedlet verkar med neurotoxicitet som biverkning. (Hansson, Hendriksson & Peterson, 2008, 190-191).

Topoisomeraser är enzymer som påverkar DNA-strukturen. Dessa enzymer gör ett strängbrott i DNA-strängarna som gör att cellen inte kan kopiera DNA och dela sig. Daunorubicin (ex. DaunoXome®) är ett cytostatikaläkemedel som innehåller topoisomeras och som ges främst till leukemipatienter. (Hansson, Hendriksson, Peterson & 2008, 191-192).

Antimetaboliter stör ämnesomsättningen i cellerna och hämmar på utvecklingen och delningen. Ett läkemedel som ofta används för leukemier är Mekaptopurin. Antimetaboliter används även mot reumatism. Kladribin är det verksamma ämnet i Leustatin® och tillhör cytostatikagruppen purinaloger. Leustatin® ges för behandling av hårcellsleukemi och kronisk lymfatisk leukemi och fungerar genom att hämma DNA-polymeraset och döda de onormala leukocyterna. (Hansson, Hendriksson & Peterson, 2008, 193-195).

Velbe® är ett cytostatika med det verksamma ämnet Vinblastin. Vinblastin hör till gruppen vinkaalkaloider som hämmar mitosen genom att blockera cellerna i metafasen vilket i sin tur leder till celldöd. Vinblastin används främst för behandling

av bland annat Hodgkins syndrom och cancer i livmodern. Läkemedlet kan leda till granulocytopeni och därför är det viktigt att regelbundet följa upp granulocyterna i blodet. (Hansson, Hendriksson & Peterson, 2008, 1935-196).

Taxol® är varunamnet för det verksamma ämnet Paklitaxel. Paklitaxel förstör mikrotubulins normalfunktion. Mikrotubuli håller cellens organeller på plats och är även viktig för cellens delning. Paklitaxel ökar även cellernas apoptos. Även paklitaxel påverkar blodcellerna antal och patienter som behandlas med paklitaxel kan få neutropeni som biverkning. (Hansson, Hendriksson & Peterson, 2008, 195-196).

4.7.3 Tillväxtfaktorbehandling

De flesta cytostatikabehandlingar påverkar i princip alla celler som utvecklas i benmärgen. Som biverkning av behandling är det inte ovanligt med anemi, trombocytopeni eller leukopeni. Efter en cytostatikabehandling ses den lägsta granulocytnivån vanligtvis 8-12 dagar efter behandlingen medan trombocytopeni upptäcks efter 14 dagar. Skillnaden beror på de olika cellinjernas livslängd. Även andra mediciner minskar neutrofilerna avsevärt. Minskning av antalet neutrofiler är ofta den allvarligaste biverkningen eftersom risken för infektion är så stor. Därför är vanligt att tillväxtbehandling, såsom G-CSF eller GM-CSF, ges åt cancerpatienter för att minska risken för neutropeni och för att kunna ge en behövlig dos av läkemedel utan att utsätta patienter för alltför låga neutrofilvärden. G-CSF är ett protein som normalt produceras i kroppen och som gör att neutrofilerna mognar, funktionerar och lever längre. Cytokinernas påverkan på utvecklingen togs upp tidigare i arbetet. G-CSF är genteknologiskt framställt och ges vanligtvis som en injektion. Genom att ge tillväxtbehandling till en patient förkortar man den kritiska tiden med låga neutrofilerna och höjer på så sätt immunförsvaret. Risken för en bakterie- eller svampinfektion blir mindre och inte lika mycket antibiotika behövs. Vid cancer startas behandling med G-CSF ofta 3-5 dagar efter att kemoterapi har börjat. Forskning har visat att risken för neutropeni är störst under den första delen av kemoterapibehandlingen. Pegfilgrastim är det verksamma ämnet i läkemedlet Neulasta®. Neulasta är ett av de vanligaste läkemedlen som ges för att minska risken för infektion hos patienter som får starka cellgifter. (Hansson, Hendriksson & Peterson, 2008, 210-211).

4.7.4 Psykofarmaka och neutrofilerna

Schizofreni är den vanligaste psykotiska störningen och är den största delen av den psykiatriska vården. Det finns olika former av schizofreni men ofta uttrycks sjukdomen i vanföreställningar och hallucinationer. Patienterna kan höra röster och uppfattar ofta världen runt omkring sig som misstänkt. De kan föreställa sig att de är iakttagna eller blir förföljda. Ibland kan personlighetsförändringar och -störningar finnas med i sjukdomsbilden. Många schizofrena använder droger och alkohol för att försöka lätta på tillvaron men försöken gör bara symptomen värre och minskar effekten av läkemedelsbehandling. (Ottosson & Ottosson, 2007, 124-127).

Schizofreni uppstår med en kombination av äftighet, hjärnskador och olika belastande faktorer såsom stress och trauma. Störningar då fostret utvecklar nervsystemet ökar risken för att schizofreni kan utvecklas senare i livet. Sjukdomen behandlas främst med hjälp av läkemedel. (Ottosson & Ottosson, 2007, 128-129).

Klozapin är det verksamma ämnet i Leponex som är ett antipsykotiskt läkemedel. Leponex ges främst åt patienter med schizofreni men kan också ges åt patienter med Parkinsons sjukdom om det förekommer svåra störningar i tankar och beteende. Klozapin kan leda till ökad apoptos hos neutrofilerna och därmed orsaka neutropeni hos vissa patienter. Denna form av neutropeni utvecklas snabbt och är därför allvarlig och dödlig. Därför är det viktigt att regelbundet, varje vecka, kolla upp neutrofilantalet hos patienter med Leponexbehandling. Detta gäller främst under de första sex månaderna av behandlingen. (Hannon, Pooler & Mattson, 2009, 295).

5 Diskussion och kritisk granskning

Syftet med detta arbete var att ge ökad kunskap om undersökningen B-neutrofilen. Det är en undersökning som beställs allt mera och för att kunna utföra ett gott arbete är det också viktigt att ha kunskap om bakgrunden till undersökningen. De neutrofila granulocyterna är en viktig del av vårt immunförsvar och det är viktigt att kolla upp dem och vara medveten om deras antal i blodet. Ett för lågt neutrofilantal är allvarligt och kan leda till döden. Därför är det viktigt att ha kunskap om denna blodcell och förstå innebörden i provsvaret. Ett felaktigt svar kan få allvarliga konsekvenser och leda till felbedömningar och felbehandlingar. Arbetet har täckt de neutrofila granulocyterna på ett allmänt plan och gett information åt personalen på laboratoriet för att kunna underlätta deras arbete. Målet med arbetet är på det sättet uppnått.

Den praktiska delen med frågeformuläret borde kanske ha gjorts annorlunda. Det var väntat att en större del av de tillfrågade läkarna skulle komma med ett svar. Men flertalet svarade inte på frågeformuläret. Skulle flera ha svarat skulle kanske detta arbete ha sett annorlunda ut eftersom svaren styrde arbetes inriktning. Men formuläret var frivilligt och valfritt att fylla i. Men de svar som ändå kom hjälpte till stor del när det gäller kapitlet om kemoterapi och psykofarmaka.

De neutrofila granulocyterna är mycket intressanta och detta arbete är bara ett ytskrap av deras unika karaktär. Vi vet i dagens läge mycket om hur neutrofilerna fungerar men ännu finns det frågetecken som borde rätas ut. Människokroppen är fantastisk och jag tror att vi aldrig kommer att förstå den helt och fullt.

Källförteckning

Agger, R., Andersen, V., Leslie, G. & Aasted, B. (2006). *Immunologi*. Lund: Studentlitteratur.

Amser (2011)

<http://amser.org/index.php?P=AMSERResourceFrame&resourceId=5613> (hämtat 15.11.2011)

Bain, B. (2008). *Beginner's Guide to Blood Cells*. Massachusetts: Blackwell Publishing.

Brändén, H. & Andersson, J. (2004). *Grundläggande immunologi* 3:e uppl. Lund: Studentlitteratur.

Buescher, S. (2005). Neutrophil function and disorders of neutrophils in newborn. In: Alarcón, P. & Werner, E. (eds.) *Neontal hematology*. New York: Cambridge University Press.

Carlsson, G., Garwicz, D., Nordenskjöld, M., Fadeel, B., Palmblad, J. & Henter J-I. (2006), Kostmanns syndrom till stor del klarlagt – genom svensk forskning, *Läkartidningen*, 103 (50-52), 4023.

Cassatella, M. (2010). Neutrophils II. In: Sterhan, C., Ward, P. & Gilroy, D. (ed.). *Fundamentals of Inflammation*. New York : Cambridge University Press.

Dale, D. & Liles, W. (2003). Neutrophils and monocytes: Normal physiology and disorders of neutrophil and monocyte production. In: Handin, R., Lux, S. & Stossel, T. *Blood: principles and practice of hematology 2nd ed*. Philadelphia: Lippinkott Williams & Wilkins.

Elementary hematology (2011)

http://www.uwosh.edu/med_tech/teaching/ElementaryHemeWeb/LEARN%20ABO%20UT%20WBCS.htm (hämtat 15.11.2011)

Guder, W., Narayanan, S., Wisser, H. & Zawta, B. (2009). *Diagnostic Samples: From the patient to the Laboratory 4:th ed.* Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.

Hannon, R., Pooler, C. & Mattson-Porth, C. (2009). *Porth Pathophysiology: Concepts of Altered Health States.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Hansson, J., Hendriksson, R. & Peterson C. (2008). Cytostatika och cytostatikabehandling. Ingår i: Ringborg, U., Dalianis, T. & Hendriksson, R. *Onkologi.* Stockholm: Liber.

Henriksson, O. & Rasmusson, M. (2007). *Fysiologi med relevant anatomi 2.uppl.* Lund: Studentlitteratur.

Hillman R., Ault K. & Rinder H (2005) *Hematology in clinical practice 4th ed.* USA: The McGraw-Hills Companies

Hoffbrand, A., Moss, P. & Pettit J. (2006). *Essential Haematology.* 5th ed. Massachusetts: Blackwell Publishing.

Klein, G., Firberg, S. & Wiman, K. (2008). Onkogener, suppressorgener och den maligna flerstegsevolutionen. Ingår i: Ringborg, U., Dalianis, T. & Hendriksson R. *Onkologi.* Stockholm: Liber.

Laboratoriehandboken, Vasa centralsjukhus (2009)
<http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/se/default.htm> (hämtat 15.11.2011)

Lippi, G., Salvagno, G.L., Montagnana, M., Franchini M. & Guidi G.C. (2006). Venous stasis and routine hematologic testing. *Clinical & Laboratory Haematology*, 28 (5).

Lännergren, J., Westerblad H., Ulfendahl M. & Lundeberg, T. (2007) *Fysiologi.* Lund: Studentlitteratur

Miller, J. (2003) Specimen collection, handling, preparation and storage. In: Ward-Cook, K., Lehmann, C., Schoeff, L. & Williams, R, *Cinical Diagnostic Technology: The total testing process*. USA : AACCPress.

Mölne, J. & Wold, A. (2007). *Inflammation*. Stockholm: Liber AB

Norip (2003) <http://www.furst.no/norip/> (hämtat 15.11.2011)

Olsson, I. (2006) Blod och blodbildande organ. Ingår i: Bergman, G., Engström-Laurent, A., Lindgren, S. & Lindholm, N. *Internmedicin*. Stockholm: Liber AB.

Ottosson, H. & Ottosson, J-O. (2007). *Psykiatriboken*. Stockholm: Liber AB

Paattiniemi E-L. (2009). *XE-5000: Rakenne, mittausperiaatteet ja parametrit*. Esbo: Roche Diagnostics.

Palmblad, J. (2006) Granulocytsjukdomar. Ingår i: Bergman, G., Engström-Laurent, A., Lindgren, S. & Lindholm, N. *Internmedicin*. Stockholm: Liber AB.

Poznansky M.& Vianello F (2008) Febrile neutropenia. In: Chabner B, Lynch T. & Longo D., *Harrison´s manual of oncology*, USA: The McGraw-Hill Companies

Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R., Porkka, K. (toim). (2007) *Veritaudit*. Duodecim :Helsingfors

Sand, O., Sjaalstad, Ø., Haug, E. & Bjålie, J. (2007). *Människokroppen, Fysiologi och anatomi* 2. uppl. Stockholm: Liber AB.

Sand, O., Sjaalstad, Ø. & Haug, E. (2004). *Människans fysiologi*. Stockholm: Liber AB.

Salmi, M. & Meri S. (2011) Immuunijärjestelmän anatomia: solut ja kudokset. Teoksessa: Hedman, K., Heikkinen T., Huovinen P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara M. (toim). *Immunologia: mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Duodecim: Helsingfors

Scher, J., Abramson, S. & Pillinger, M. (2010). Neutrophils I. In: Sterhan C., Ward P. & Gilroy D (red.). *Fundamentals of Inflammation*. New York : Cambridge University Press.

Simonsson, P., Mårtensson, A. & Rustad, P. (2004) Nya gemensamma nordiska referensintervall inom klinisk kemi, Bättre bas för klinisk bedömning och samarbete. *Läkartidningen*, 101, 10, 910-905

Sinisalo, M. & Koski T. (2010) Mitä kertoo verikuva? *Suomen Lääkärilehti* 36/2010, 65

Smith, L. (2007). Hematopoietic theory. In: Rodak, B., Fritsma, G. & Doig, K. *Hematology: clinical principles and applications*. St Louis: Saunders Elsevier.

Sompayrac, L. (2003). *How the immune system Works* 2nd ed. Ann Arbor: Blackwell Publishing.

Sysmex Corporation, Bruksanvisning för automatisk hematologianalysator XE-5000 (2007) Kobe

Sysmex (2011) http://www.sysmex.co.jp/en/r_and_d/lab_test.html (hämtat 15.11.2011)

Tazzyman, S., Lewis, C. & Murdoch, C. (2009) Neutrophils: key mediators of tumour angiogenesis, *International Journal of Experimental Pathology*, 90, 222–231

Turgeon, M. (2005). *Clinical Hematology: Theory and procedures* 4th ed. USA: Lippinkott Williams & Wilkins.

Wallin, O. (2006). *Preanalytical errors in hospitals*. Umeå: Umeå University.

Wallin, O., Sundberg, E., Van Guelpen, B. & Grangvist, K. (2006). Brister vid venprovtagning och provhantering kan påverka svaret, enkätstudie av preanalytiska faktorer vid en somatisk vårdavdelning. *Läkartidningen* 103 (20).

Frågeformulär

Jag studerar bioanalytik vid Yrkeshögskolan Novia och gör mitt lärdomsprov angående undersökningen B-neutrofiler (3238). Personalen på Hematologilaboratoriet på Vasa centralsjukhus har märkt att det beställs mer och mer av undersökningen B-neut. Jag skulle vara intresserad av att veta er åsikt och syn gällande undersökningen. Jag skulle vara tacksam om ni skulle ha tid att ge er åsikt angående följande frågor. Svaren behandlas konfidentiellt.

Frågorna är endast på svenska men om ni önskar kan jag även skicka dem på finska. Ni får naturligtvis svara på finska.

Frågorna finns även som en bifogad fil.

1. Hur ofta beställer ni undersökningen B-neut?
2. Hur viktigt anser ni att neutrofilsvaret är?
3. Vad är i de flesta fall orsaken till ni beställer undersökningen?
4. Vilka läkemedelsbehandlingar kan mest påverka neutrofilernas antal?
5. Referensvärdet för neutrofilerna är $2,1 - 6,5 \cdot 10^9/l$. Vilka är behandlingsgränserna?
6. I vilka fall används tillväxtbehandling (G-CSF)? Finns det några nackdelar med behandlingen?

Ytterligare kommentarer?

Tack!

Jannika Backlund

Hur ska jag göra då B-neutr fastnar i programmet?

1. SIS-regel 62 : IG? / IG > 10 %

- B-neutr kan svaras om neutrofilmolnen ser bra ut (inga gråa fält, tydligt markerade färgfält...)

Korrigerar neutrofilsvaret på Viivis/ Majjas dataskärm till SIS-programmet på följande sätt:

- Research (W) – Mode - Input – Graphics2
- Ändra till det korrigerade neutrofilsvaret

Det korrigerade svaret är Neut#&.
Datorn räknar själv svaret!

Ex. $\text{Neut\#} - \text{IG\%} = \text{Neut\#\&}$
 $9.30 - 3.49 = 5.81$

- Mata in det korrigerade svaret (Neut#&). Använd punkt ■ Inte kommatecken , slå enter
- Mode - Validate - YES – Validate

The screenshot shows the 'Research (W) - Mode - Input - Graphics2' screen in the Viivis/Majja software. The interface includes a menu bar at the top with options like File, Edit, View, Record, Action, Report, Setting, Window, and Help. Below the menu bar, there are several data tables and plots.

Measurement Parameters:

Item	Data	Unit
WBC &	15.83	10 ⁹ /L

Research Parameters:

Item	Data	Unit
NEUT#	9.30	10 ⁹ /L
LYMPH#	3.87	10 ⁹ /L
MONO#	1.31	10 ⁹ /L
EO#	0.71	10 ⁹ /L
BASO#	0.64	10 ⁹ /L
IG#	3.49	10 ⁹ /L
NEUT%	58.8	%
LYMPH%	24.4	%
MONO%	8.3	%
EO%	4.5	%
BASO%	4.0	%
IG%	22.0	%

Research Parameters (continued):

Item	Data	Unit
WBC-B&	15.83	10 ⁹ /L
WBC-D	16.31	10 ⁹ /L
NRBC+W	16.99	10 ⁹ /L
NEUT#&	5.81	10 ⁹ /L
LYMPH#&	3.77	10 ⁹ /L
HFLC#	0.10	10 ⁹ /L
NEUT%	36.8	%
LYMPH%	23.8	%
HFLC%	0.6	%
NEUT-X	132.7	ch
NEUT-Y	46.8	ch

HPG Area:

Item	Data	Unit
Area#	0.075	10 ⁹ /L
Area%	0.47	%

Flag (WBC):

Item	Data	Unit
IMZ#		
NRBC#	1.16	10 ⁹ /L
NRBC%	7.3	/100WBC

Plots:

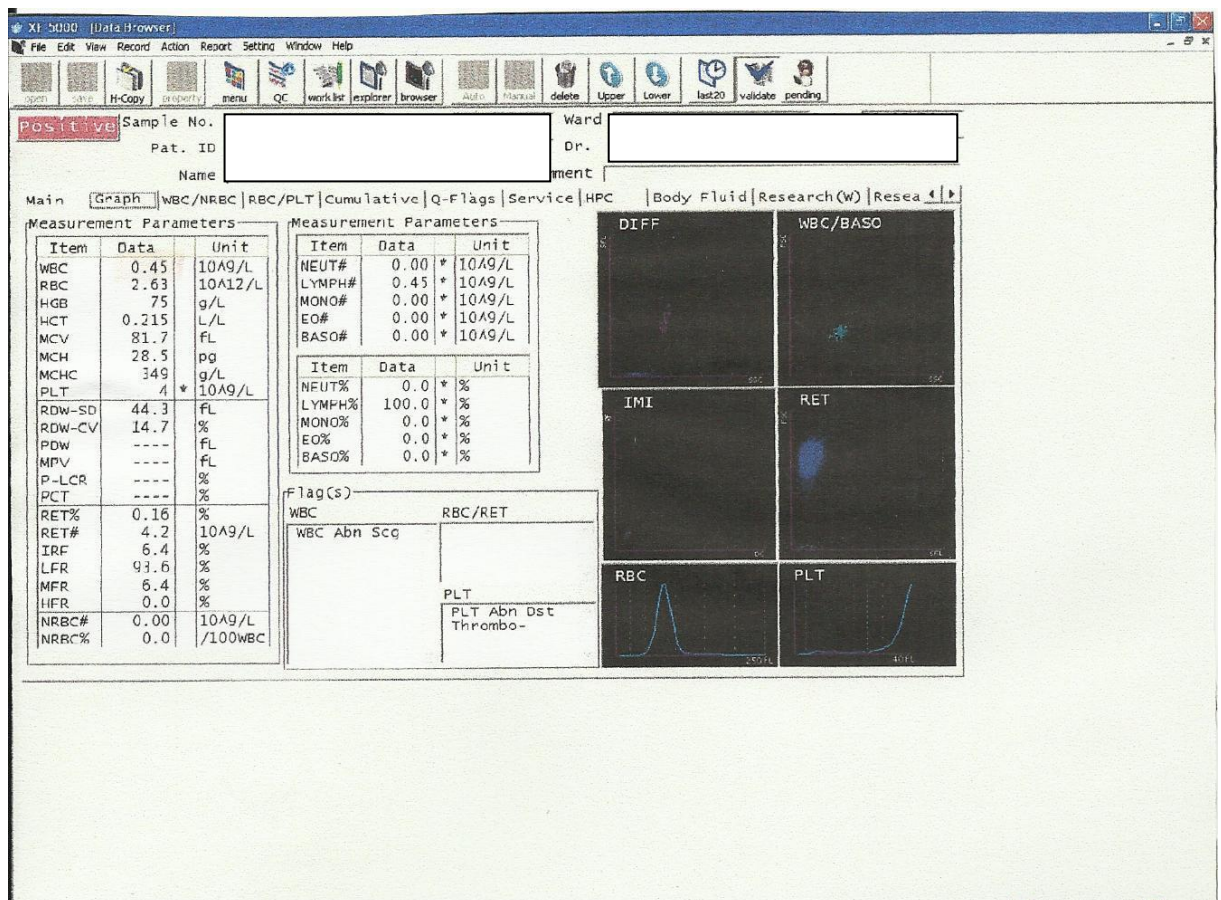
- DIFF: A scatter plot showing the distribution of white blood cells.
- WBC/BASO: A scatter plot showing the distribution of white blood cells and basophils.
- IMI: A scatter plot showing the distribution of immature monocytes.
- NRBC: A scatter plot showing the distribution of nucleated red blood cells.

2. SIS- regel 63 : IG?/ IG > 3%

- Om molnen ser okej ut svaras resultatet som i föregående exempel.

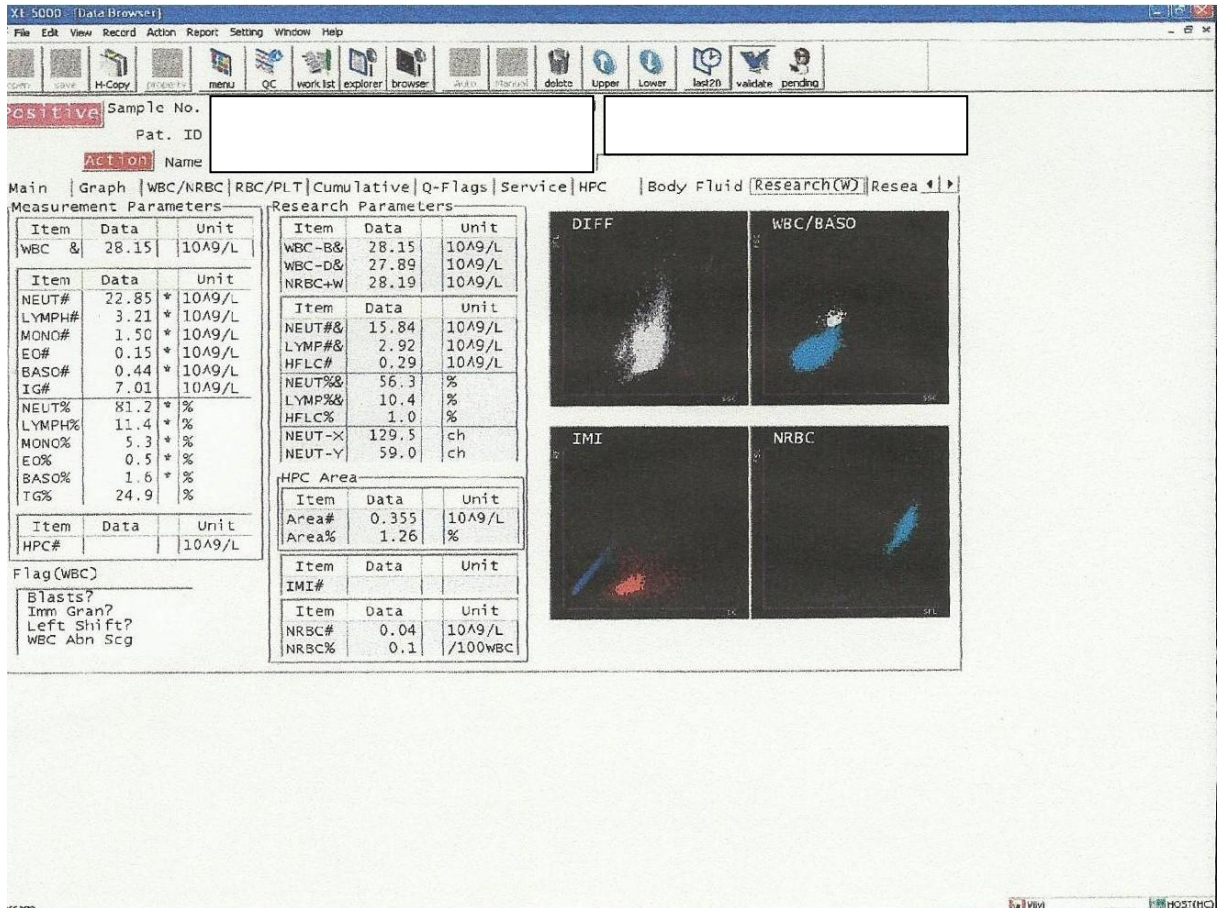
3. WBC <0,5

- Bedöm i mikroskop



4. B-neut. Ei vastata : Diff-molnen är endast gråa. Flaggan WBC Abn Scg visas.

- Bedöm i mikroskop



OBS! Neut# = Neutrofilsvar där IG är inräknat

Neut#& = Neutrofilsvar där IG är borträknat